نشریه دانش آب و خاک/ جلد 22 شماره 3/ سال 1391

تأثیر سطوح مختلف سرب بر جمعیت باکتری و قارچ در طول انکوباسیون خاک

علی مولائی[1*]، ناصر علی‌اصغرزاد[2] و شاهین اوستان[3]

تاریخ دریافت: 89/05/23 تاریخ پذیرش: 90/03/02

[1-] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[2-] استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[3-] دانشیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[*] مسئول مکاتبه: Email: ali_movlai19@yahoo.com

چکیده

کمپوست شهری و لجن فاضلاب که برای اصلاح ساختمان خاک و افزایش حاصلخیزی خاک به‌کار می‌روند، اغلب دارای مقادیری از Pb، Cd، Zn، Ni و Cu هستند که برای میکروارگانیسم‌های خاک سمی می‌باشند. در میان این عناصر Pb نسبت به بقیه دارای غلظت بالاتری است. در این تحقیق اثرات سطوح مختلف Pb (به صورت نیترات سرب) بر جوامع میکروبی خاک مورد ارزیابی قرار گرفت. شش سطح Pb شامل صفر، 100، 200، 300، 400 و 500 میلی‌گرم Pb در کیلوگرم خاک به گلدان‌های حاوی دو کیلوگرم خاک در دو تکرار افزوده شده و در رطوبت 0/7 ظرفیت مزرعه و دمای 2±25 درجه سلسیوس به مدت شش ماه انکوباسیون گردید. در روزهای 15، 30، 90 و 180 تعداد جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها به روش شمارش کلنی در ظرف پتری تعیین شد. در هریک از دوره‌های زمانی با افزایش غلظت Pb جمعیت باکتری‌ها کاهش یافت و بیشترین اثر منفی از غلظت 200 میلی‌گرم Pb در کیلوگرم خاک به بالا مشاهده شد. 15 روز پس از انکوباسیون جمعیت قارچ‌ها در سطوح 400 و 500 نسبت به سطح صفر Pb به طور معنی‌داری کاهش یافت. با افزایش زمان انکوباسیون به 180 روز، تعداد جمعیت قارچ‌ها در سطوح مختلف Pb تفاوت معنی‌داری ($p\leq0/05$) نداشت. به‌نظر می‌رسد که در خاک مورد آزمایش، جمعیت قارچ‌ها نسبت به جمعیت باکتری‌ها دارای تحمل بیشتری به سطوح بالای Pb بودند.

واژه‌های کلیدی: باکتری، تحمل، سرب، شمارش کلنی، قارچ

Effect of Different Pb Levels on Bacterial and Fungal Populations During Soil Incubation

A Molaei[1*], N Aliasgharzad[2] and Sh Oustan[3]

Received: 14 August 2010 Accepted: 23 May 2011
[1] Former MSc Student, Dept. of Soil Sci.,Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran
[2]Prof., Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran
[3]Assoc. Prof., Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran
[*]Corresponding author Emai: ali_movlai19@yahoo.com

Abstract

Municipal compost and sewage sludge which are used as amendments to improve soil structure and fertility, often contain Pb, Cd, Zn, Ni and Cu at levels that are toxic to soil microorganisms. Among these elements, Pb appears at relatively higher concentration. In this study, the impact of different levels of Pb as $Pb(NO_3)_2$ on the population of soil microorganisms in soil were evaluated. Six levels of Pb including 0, 100, 200, 300, 400 and 500 mg Pb per kg soil were added at two replications to the pots containing 2 kg of soil and kept 25±2°C and 0.7 FC soil moisture for six months. Bacterial and fungal cells numbers were enumerated using plate count method, on days 15th, 30th, 90th and 180th day during incubation. At each incubation period, bacterial number decreased with increasing Pb levels. The most adverse effect of Pb was observed at above 200 mg Pb kg^{-1}. Fifteen days after incubation, the fungal population was significantly ($p \leq 0.05$) declined at 400 and 500 mg Pb kg^{-1} compared to the control level (zero addition of Pb). By increasing of incubation time to 180 days, the fungal number cells showed no significant differences between Pb levels. It seems that the fungal population is more tolerant to Pb than the bacterial population in the tested soil.

Key words: Bacteria, Fungi, Pb, Plate count, Tolerance

مقدمه

میکروارگانیسم‌های خاک نقش مهمی در چرخه عناصر غذایی و تغذیه گیاه، حفظ و نگهداری ساختمان خاک، سم‌زدایی مواد شیمیایی مضر، کنترل آفات گیاهی و رشد گیاه ایفا می‌کنند (السگارد و همکاران 2001، فیلیپ 2002). فلزات سنگین آلاینده‌های مضر خاک می‌باشند. بعضی از این فلزات مانند Pb حتی در غلظت‌های کم سمی هستند، درحالی که فلزات سنگین دیگر مانند Zn و Cu در غلظت‌های کم برای میگروارگانیسم‌ها و گیاهان ضروری می‌باشند (هوگس و پول 1989). با وجود این، غلظت زیاد این فلزات نیز می‌تواند اثرات

نامطلوبی را بر میکروارگانیسم‌ها اعمال کند. شواهد قاطعی وجود دارد که میکروارگانیسم‌های خاک حساسیت بیشتری به فلزات سنگین در مقایسه با جانوران و گیاهان دارند (گیلر و همکاران 1999). فلزات سنگین عمدتاً از طریق تأثیر بر تنوع گونه‌ای و فعالیت، بر اکولوژی میکروبی خاک مؤثر واقع می‌شوند (فروستگارد و همکاران 1996، آرنبرانت و بت 1987). در معرض قرار گرفتن طولانی‌مدت میکروارگانیسم‌ها در مقابل فلزات سنگین منجر به کاهش تنوع و فعالیت میکروبی در خاک می‌شود (لاسات 2002، مک گرات و همکاران 2001).

امروزه در کشاورزی پایدار برای جلوگیری از اثرات نامطلوب کودهای شیمیایی بر سلامت محیط زیست از مواد آلی مختلف مانند کودهای دامی، لجن فاضلاب و انواع کمپوست برای افزایش حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه استفاده می‌شود. علیرغم این اثرات مفید، مواد آلی مذکور ممکن است حاوی فلزات سنگین متعدد باشند که فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

تحمل میکروارگانیسم‌های موجود در خاک در برابر آلاینده‌ها متفاوت است. در بین گروه‌های متفاوت میکروبی موجود در خاک، باکتری‌های همزیست تثبیت کننده نیتروژن حساسیت بیشتری به آلودگی طولانی-مدت فلزات سنگین دارند (اولیویرا و پامپلها 2006). قارچ‌ها در مقایسه با باکتری‌ها دارای تحمل بیشتری به آلودگی طولانی‌مدت فلزات سنگین هستند (بت 1989، فروستگارد و همکاران 1996). در خاک‌های آلوده به Cd، Ni، Cu و Zn تعداد باکتری‌های ریزوبیوم *لگومینوزاروم* به طور قابل توجه کاهش می‌یابد. همچنین کاهش قابل توجهی در سرعت تجزیه بقایای آلی در مکان‌های آلوده به Zn و دیگر فلزات سنگین مشاهده شده است (فریدمن و هاتچینسان 1980). این محققان همچنین شواهدی از بازدارندگی تثبیت نیتروژن در باکتری‌های آزادزی هتروتروف در خاک‌های آلوده با Pb، Ni، Cd و Zn را گزارش کردند.

باکتری‌ها و قارچ‌ها دو گروه اصلی میکرواورگانیسم‌های خاک هستند. اندازه کوچک میکرواورگانیسم‌ها و به تبع آن سطح ویژه بالای آنها سبب افزایش حساسیت به آلاینده‌ها می‌شود. همچنین حساسیت میکروارگانیسم‌ها در خاک‌های آلوده به-واسطه تحرک پایین آنها در خاک و عدم امکان گریز از آلاینده پایین است (بیوین و همکاران 2002).

بیشتر اطلاعات درباره اثرات اکولوژیکی فلزات سنگین بر میکروارگانیسم‌های خاک در مورد فلزات معدودی مانند Cu و Zn یا فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب است. از طرفی Pb و Cr آلاینده‌های مهم خاک هستند و در رابطه با اثر غلظت‌های بالای این دو فلز بر ساختار جمعیت میکروبی و فعالیت آن‌ها اطلاعات کمی وجود دارد (شی و همکاران 2002b). ترکیب ساختار میکروبی خاک و فعالیت‌های آنزیمی آن شاخص‌های مهم نمایش آلودگی خاک بوده و نقش مهمی در عملکرد اکوسیستم خاک دارند. لذا ضروری است که اثرات این دو فلز بر ساختار جمعیت میکروبی خاک بررسی شود. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف Pb بر تغییرات جمعیتی باکتری‌ها و قارچ‌های خاک در مدت 180 روز انکوباسیون خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد آزمایش

خاک مورد آزمایش از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان تبریز از عمق صفر تا 20 سانتی‌متری نمونه-برداری گردید. پس از هوا خشک کردن خاک، برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی شامل بافت، pH، EC، درصد کربنات کلسیم معادل و ماده آلی اندازه‌گیری شد. pH و EC در عصاره گل اشباع، کربنات کلسیم

معادل به روش تیتراسیون (جکسون 1960)، بافت به روش هیدرومتر (بویکاس 1962) و ماده آلی به روش والکی– بلک[1] (راول 1994) انجام شد.

آماده سازی خاک

مقدار دو کیلوگرم خاک عبور کرده از الک چهار میلی‌متری در 12 گلدان پلاستیکی ریخته شد. سپس رطوبت خاک به 50 درصد ظرفیت مزرعه رسانده شد و به مدت 7 روز در دمای 2±25 درجه سلسیوس انکوباسیون گردید. بدین ترتیب بعضی از گونه‌های میکروبی که ممکن است بر اثر تنش خشکی غیرفعال شده باشند فعال می‌شوند (لیااو و همکاران 2005). مقادیر مختلف Pb شامل صفر، 100، 200، 300، 400 و 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب در دو تکرار به گلدان‌ها اضافه و به مدت 180 روز در دمای 2±25 درجه سلسیوس و رطوبت 0/7FC انکوباسیون شدند. برای ایجاد غلظت‌های برابر نیترات در همه‌ی تیمارها، نیترات از منبع نیترات کلسیم در غلظت‌های معکوس به گلدان‌ها افزوده شد.

تعیین جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک

تعداد جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها در 15، 30، 90 و 180 روز پس از شروع انکوباسیون خاک با استفاده از کشت پلیت و شمارش مستقیم میکروب‌ها به شرح زیر تعیین گردید (کیلی و همکاران 1999).

تهیه رقت‌های دهدهی از خاک

دو نمونه 10 گرمی از هر گلدان به‌طور جداگانه در داخل ارلن مایرهای 250 میلی‌لیتری حاوی 95 میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته شد. ارلن مایرها به مدت 5 دقیقه بصورت دورانی بهم زده شدند. سپس به‌مدت 15 ثانیه ثابت نگه داشته شدند تا ذرات درشت ته‌نشین شوند. 5 لوله آزمایش حاوی 9 میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون خاک-ها برداشته شده و به لوله شماره یک منتقل گردید. مجدداً یک میلی‌لیتر از لوله اول برداشته و به لوله دوم منتقل شد. رقت‌های بعدی نیز به همین ترتیب تهیه شدند. عمل رقیق‌سازی خاک تا رقت 10^{-6} گرم بر میلی‌لیتر انجام گرفت.

کشت قارچ

برای شمارش قارچ‌ها سه رقت 10^{-3}، 10^{-4} و 10^{-5} گرم بر میلی‌لیتر انتخاب شدند. برای هر رقت یک پتری-دیش حاوی محیط کشت، پپتون-دکستروز رزبنگال[2] آگار اختصاص یافت. سپس از هر رقت 100 میکرولیتر به محیط کشت اضافه شد و در انکوباتور در دمای 25 درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای تهیه محیط کشت اختصاصی قارچ از 10 گرم دکستروز (D- گلوکز)، پنج گرم پپتون، یک گرم KH_2PO_4، نیم گرم $MgSO_4.7H_2O$ و 16 گرم در لیتر آگار استفاده شد. برای ممانعت از رشد باکتری‌ها و اکتینومایست‌ها ماده رزبنگال با غلظت 35 میلی‌گرم بر لیتر به کار رفت. همچنین برای ممانعت از رشد باکتری‌های سریع الرشد، آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با غلظت 30 میلی‌گرم بر لیتر اضافه شد. شمارش کلنی‌ها پنج روز پس از کشت انجام گرفت (علی‌اصغرزاد 1385).

کشت باکتری

برای شمارش باکتری‌ها، رقت‌های 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} گرم بر میلی‌لیتر انتخاب شدند و کشت در محیط کشت مختص باکتری‌های هتروتروف هوازی یعنی نوترینت آگار با غلظت 16 گرم در لیتر انجام شد. برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها، 50 میلی‌گرم بر لیتر نیستاتین[3] به محیط کشت باکتری اضافه شد. پس از 24

[1] Walkly-Black method

[2] Pepton-dextrose rose bengal agar

[3] Nystatin

ساعت انکوباسیون در دمای 25 درجه سلسیوس شمارش کلنی‌ها انجام گرفت (علی‌اصغرزاد 1385).

تحقیق حاضر به‌صورت آزمایش اسپلیت پلات[1] با دو فاکتور، Pb در شش سطح به عنوان فاکتور اصلی و زمان در چهار سطح به عنوان فاکتور فرعی در چهار تکرار با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گردید. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها توسط نرم-افزارهای SPSS و MSTATC انجام گرفته و نمودارها به وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردید. برای کلیه داده‌ها قبل از انجام آنالیزهای آماری، آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست K-S[2] انجام گرفت. داده‌های بدست آمده برای تمام متغیرهای اندازه‌گیری شده دارای توزیع نرمال بودند.

نتایج و بحث

برخی خصوصیات مهم فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول 1 آمده است.

جدول 1- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک.

pH	8/36
EC (dS/m)	0/702
کربنات کلسیم معادل (%)	9/1
مواد آلی (%)	0/5
گروه بافت	لوم رسی شنی

جمعیت باکتری‌های خاک برای سطوح مختلف Pb اضافه شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکل 1 نشان داده شده است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول 2)، اثر سطوح مختلف سرب و زمان انکوباسیون بر جمعیت باکتری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما اثرات متقابل سطوح سرب و زمان معنی‌دار نبود.

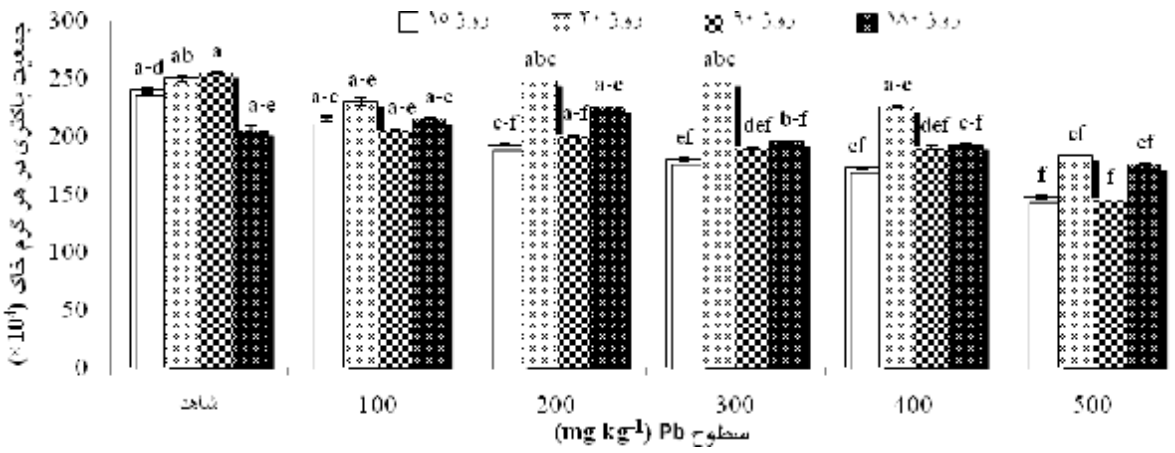
با افزایش سطوح Pb خاک در هر چهار زمان انکوباسیون جمعیت باکتری‌های خاک کاهش یافت. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که در روز 15 انکوباسیون، جمعیت باکتری‌های خاک در سطوح 300، 400 و 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک با سطح شاهد اختلاف معنی‌داری دارد. همچنین بین سطح 100 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک و سطح 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک اختلاف معنی-داری وجود دارد. از این نتایج می‌توان دریافت که Pb در روزهای اولیه آلودگی خاک، اثرات نامطلوبی بر جامعه میکروبی خاک گذاشته است. بین سطوح 100 و 200 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک و سطح شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود ندارد. همچنین می‌توان گفت که اگر میزان Pb کل خاک کمتر از 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم باشد احتمال اینکه بتوان صدمات ناشی از آلودگی Pb را جبران کرد وجود دارد. کلیی و همکاران (1999) در بررسی اثر Zn بر جامعه میکروبی خاک با استفاده از کشت میکروبی مشاهده کردند که افزایش غلظت Zn تأثیر منفی شدیدی بر ساختار جامعه میکروبی در ابتدای انکوباسیون داشت.

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس شمارش جمعیت باکتری.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
سطوح سرب	5	5150/5**
خطا	6	88
زمان	3	3621/3**
سطوح سرب × زمان	15	474/7ns
خطا	18	547/7
ضریب تغییرات	%11/93	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ns بدون تفاوت معنی‌دار

[1] Split plot
[2] One-sample kolmogrov-Smirnov test



شکل 1- جمعیت باکتری‌های خاک در سطوح مختلف Pb اضافه شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون خاک.

پس از 30 روز انکوباسیون فقط بین سطح 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک و سطح شاهد در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد ولی بین بقیه سطوح Pb با سطح شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. افزایش رشد مختصر در این دوره احتمالاً به دلیل آزاد شدن برخی مواد غذایی بر اثر مرگ سلولی در دوره قبلی در غلظت‌های بالاتر بوده است. پس 90 روز از انکوباسیون بین سطوح 300، 400 و 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک با سطوح 100 و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود دارد. کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌ها در روز 90 در تیمارهای فوق‌الذکر احتمالاً بدلیل کاهش مواد غذایی و ادامه حضور مواد سمی بوده است ولی آهنگ کاهش کندتر از دوره اول (15 روز) می‌باشد (شکل 1).

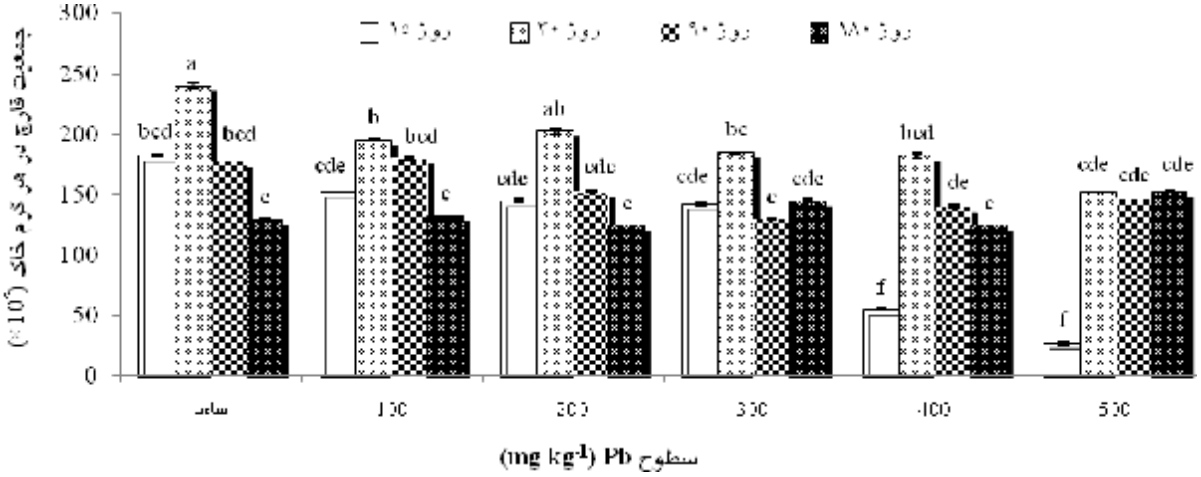
پس از 180 روز انکوباسیون خاک جمعیت باکتری‌ها در هیچ یک از سطوح Pb با سطح شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد. به‌نظر می‌رسد این افزایش ناشی از ایجاد تحمل در جامعه باکتری‌های خاک در 180 روز پس از انکوباسیون باشد. در سطوح بالاتر Pb، جمعیت باکتری‌ها به‌خاطر افزایش تحمل در بعضی از گونه‌های باکتری‌ها افزایش یافته است. به عبارت دیگر در 180 روز پس از انکوباسیون رشد باکتری‌های خاک بازیابی شده است، به طوری که جمعیت باکتری‌ها در مقایسه با تیمار شاهد در هیچ یک از سطوح Pb در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری نداشت. کلیی و همکاران (1999) مشاهده کردند که در مقادیر بالای Zn با گذشت زمان، جمعیت میکروبی در خاک‌های آلوده به Zn می‌تواند به اندازه برابر با خاک‌های آلوده برسد.

جمعیت قارچ‌های خاک برای سطوح مختلف Pb اضافه شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکل 2 نشان داده شده است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول3)، اثر سطوح مختلف سرب و زمان انکوباسیون بر جمعیت قارچ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. همچنین اثرات متقابل سطوح سرب و زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس شمارش جمعیت قارچ.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
سطوح سرب	5	4503/7**
خطا	6	171/8
زمان	3	12576/4**
سطوح سرب × زمان	15	1916/8**
خطا	18	320/5
ضریب تغییرات	%11/41	

** معنی‌دارسطح احتمال یک درصد



شکل2- جمعیت قارچ‌های خاک در سطوح مختلف Pb در زمان‌های مختلف انکوباسیون خاک.

پانزده روز پس از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بین سطوح 400 و 500 میلی-گرم Pb بر کیلوگرم خاک با بقیه سطوح Pb وجود داشت. در این زمان با افزایش سطح Pb به 400 و 500 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک کاهش شدیدی در جمعیت قارچ‌ها نسبت به شاهد مشاهده گردید. با توجه به نتایج شی و همکاران (2002a) انتظار می‌رفت که در غلظت‌های بالای Pb جمعیت قارچ‌ها کاهش نیابد ولی باید این نکته را در نظر داشت که تأثیر همه فلزات سنگین بر جوامع میکروبی ممکن است یکسان نباشد، ثانیاً ترکیب گونه‌های قارچ نیز در همه خاک‌ها یکسان نیست.

در روز 30 انکوباسیون بین سطح 500 میلی‌گرم Pb بر کیلوگرم خاک با سطوح 100، 200 و شاهد در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. افزایش رشد مختصر در این دوره احتمالاً به دلیل آزاد شدن برخی مواد غذایی بر اثر مرگ سلولی در دوره قبلی در غلظت‌های بالاتر بوده است. همچنین در روز 90 از انکوباسیون خاک بین سطح 300 با سطوح 100 و

شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در روز 180 انکوباسیون بین هیچ یک از سطوح Pb و سطح شاهد در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

در روزهای 15 و 30 انکوباسیون کاهش عمومی در جمعیت قارچ‌ها با افزایش سطوح مختلف Pb مشاهده گردید ولی در روزهای 90 و 180 با افزایش سطوح مختلف Pb روند نسبتاً ثابتی در جمعیت قارچ‌ها وجود داشت که می‌تواند دلیل بر ایجاد تحمل بیشتر قارچ‌ها در مقابل فلزات سنگین مخصوصاً Pb در غلظت‌های بالا و در مدت زمان نسبتاً طولانی باشد. پینانن و همکاران (1996) با استفاده از تکنیک PLFA[1] تحمل به فلزات سنگین جوامع میکروبی را بررسی و بیان کردند که افزایش تحمل جوامع میکروبی به فلزات سنگین به‌واسطه سازگاری بر اثر تغییرات ژنتیکی و تغییر در ترکیب گونه‌ها می‌باشد که در آن میکروارگانیسم‌هایی که قبلاً متحمل بودند بیشتر رقابت می‌کنند. بنابراین تعداد آنها زیاد می‌شود. در تحقیق حاضر نیز جمعیت قارچ‌ها در خاک آلوده به Pb در مدت زمان طولانی در مقایسه با سطح شاهد تغییر نکرده است. در واقع با افزایش سطح Pb کاهش جمعیت قارچ معنی‌دار نبوده است و این به‌واسطه ایجاد تحمل در قارچ‌ها است (شکل 2).

شی و همکاران (2002a) در ارزیابی ترکیب جمعیت میکروبی خاک و فعالیت آنها در خاک‌های آلوده به Pb، Cr و هیدروکربن دریافتند که جمعیت باکتری‌های گرم مثبت به‌طور قابل توجهی در مکان‌های با آلودگی پایین Pb و Cr نسبت به مکان‌های با آلودگی بیشتر، بالاتر بود. باکتری‌های گرم منفی نیز به‌طور قابل توجهی در خاک‌های با آلودگی کم، فراوانی بیشتری داشتند. اما قارچ‌ها در مکان‌های با غلظت زیاد این عنصر، بیشترین فراوانی را داشتند و ترکیب جمعیت میکروبی خاک از باکتری‌ها (اعم از گرم مثبت و گرم منفی) به قارچ‌ها تغییر یافت.

کونوپکا و همکاران (1999) نشان دادند که ممکن است تحمل به Pb در جوامع میکروبی در خاک‌های آلوده به Pb اتفاق بیافتد. همچنین مطالعات آنان نشان داد که آلودگی طولانی‌مدت با غلظت‌های بالای Pb باعث تغییر در ساختار جمعیتی میکروبی خاک می‌شود. این محققان با استفاده از تکنیک PCR-DGGE[2] نشان دادند که در خاک‌های آلوده به Pb تنوع میکروبی خاک کاهش یافت. بنابراین در تحقیق حاضر نیز ممکن است تنوع میکروبی خاک کاهش یافته باشد که خود اثرات نامطلوب بر اکوسیستم خاک دارد.

مطالعه دیگری که تمرکز آن بر بخش قابل کشت جامعه میکروبی بود، نشان داد که 10 تا 100 درصد از باکتری‌هایی که در مکان‌های آلوده به فلزات سنگین مختلف برای مدت طولانی قرار گرفته بودند، به فلزات سنگین از جمله Pb متحمل شدند (سابری و همکاران 1997).

گزارشات نشان می‌دهد که در معرض قرار دادن کوتاه‌مدت فلزات سنگین باعث کاهش زیادی در فعالیت میکروبی می‌شود (رونائی و کیلوگ 1996). در مکان‌هایی که سالهاست به سطوح بالای فلزات سنگین آلوده هستند، هنوز فعالیت میکروبی وجود دارد ولی این فعالیت نسبت به مکان‌های غیرآلوده کمتر می‌باشد (کاندیلر و همکاران 1996). کونوپکا و همکاران (1999) نشان دادند که در خاک‌های آلوده به Pb، ایزوله‌های متحمل به Pb همگی باکتری‌های گرم مثبت و شامل گونه‌های *باسیلوس*، کورنیه‌فرم[3] و *اکتینومایست‌ها*[4] بودند. در این مطالعه خاک‌های آلوده به Pb دارای میزان پایین‌تری از بیوماس میکروبی نسبت به خاک‌های غیرآلوده بودند، اما این الزاماً به‌خاطر تأثیر مستقیم Pb نیست زیرا این تحقیق در

[1] Phospholipid fatty acid

[2] Polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis analysis

[3] *Coryneforms*

[4] *Actynomycetes*

آزمایشگاه و در خاک گلدان بدون گیاه انجام شده است. بنابراین، کمبود مواد آلی می‌تواند جمعیت میکروبی را کاهش دهد. از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که برای بررسی کاملتر اثرات Pb بر جامعه میکروبی خاک باید از کشت گیاه نیز استفاده شود.

جوامع میکروبی در خاک‌های بدون حضور آلاینده دارای تنوع زیادی هستند اما وقتی شرایط تغییر می‌یابد، جوامع میکروبی با تنش مواجه شده و فقط گونه‌های متحمل به آلاینده می‌توانند زنده بمانند. در نتیجه تنوع ژنتیکی کاهش می‌یابد (پیریرا و همکاران 2007). در مورد فلزات سنگین، تحمل می‌تواند هم در سطح ژنومی و هم درسطح پلاسمیدی مشاهده شود (آلدین دمولینگ و بت 2008).

با توجه به اینکه اغلب واکنش‌های بیوشیمیایی و چرخه عناصر غذایی در خاک توسط باکتری‌ها هدایت می‌شوند، کاهش جمعیت باکتری بواسطه افزایش غلظت Pb و افزایش نسبت جمعیت قارچ می‌تواند اثرات منفی جبران ناپذیری بر اکولوژی خاک بگذارد. گرچه برای پاسخ دقیق به این مسائل، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است و باید علاوه بر جوامع میکروبی، تنوع گونه‌ای نیز مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از نظرات ارزنده استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد مقدم واحد از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در مورد تحلیل آماری سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورداستفاده

علی‌اصغرزاد ن، 1385. روش‌های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک (ترجمه). چاپ اول. انتشارات دانشگاه تبریز.

Alden Demoling L and Bååth E, 2008. No long-term persistence of bacterial pollution-induced community tolerance in tylosin-polluted soil. Environ Sci Tecchnol 42: 6917-6921.

Arnebrant K and Bååth E, 1987. Copper tolerance of microfungi isolated from polluted and unpolluted forest soil. Mycologia 79: 890-895.

Bååth E, 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial process and populations careviews. Water Air Soil Pollut 47: 335-379.

Boivin M-EY, Breure AM, Posthuma L and Rutgers M, 2002. Determination of field effects of contaminants-significance of pollution-induced community tolerance. Human Ecol Risk Assessment 8:1035–1055.

Bouyoucos GJ, 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agron J: 464-465.

Elsgard L, Peterson SO and Debosz K, 2001. Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. Short-term effects on soil microbiology. Environ Toxicol Chem 20: 1656-1663.

Filip Z, 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically related biological parameters. Agri Ecol Environ 88: 169-174.

Freedman B and Hutchinson TC, 1980. Effects of smelter pollutants on forest leaf litter decomposition near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario-Can-J Bot 58: 1722-1736.

Frostegard A, Tunlid A and Bååth E, 1996. Chenges in microbial community structure during long-term incubation two soils exprimently contaminated with metals. Soil Biol Biochem 28: 55-63.

Giller KE, Witter EE and McGrath SP, 1999. Assessing risks of heavity metal toxicity in agricultural soils. Human Ecol Risk Assessment 5: 683-689.

Hughes MN and Poole RK, 1989. The Functions of Metals in Microorganisms. Metals and Microorganisms. Chapman and Hall, London.

Jackson ML, 1960. Soil Chemical Analysis. Prentice – Hall, Inc., Englewood Cliffs.

Kandeler E, Kampichler C and Horak O, 1996. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. Biol Fertil Soils 23: 299-306.

Kelly JJ, Häggblom M and Tate III RL, 1999. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study. Soil Biol Biochem 31: 1455-1465.

Konopka T, Zakharova T, Bischoff M and Oliver L, 1999. Microbial biomass and activity in lead-contaminated soil. Appl Environ Microbiol 65: 2256-2259.

Lasat MM, 2002. Phytoextraction of toxic metals; a review of biological mechanisms. J Environ Qual 31: 109-120.

Liao M, Yun-kuo L, Xiao-min Z and Chang-yong H, 2005. Toxicity of cadmium to soil microbial biomass and its activity: Effect of incubation time on Cd ecological dose in paddy soil. J Zhejiang Univ Sci 5: 324-330.

McGrath SP, Zhao FJ and Lombi E, 2001. Plant and process in phytoremediation of metal-contaminated soils. Plant and Soil 232: 207- 214.

Oliveira A and Pampulha ME, 2006. Effects of long-term heavy metal concentration on soil microbial characteristics. J Biosci Bioeng 102: 157-161.

Pennanen T, Frostgård A, Fritze H and Bååth F, 1996. Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal polluted gradients in corniferous forests. Appl Environ Microbiol 62: 420–428.

Pereira SIA, Castro IV and Figueira E, 2007. Are rhizobium and soil enzyme activities good indicators of heavy metal soil contamination? Pp. 139-157. In: George VK (Ed.). Environmental Microbiology Research Trends. Cap and Nova Science Publishers.

Roane TM and Kellogg ST, 1996. Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils. Can J Microbiol 42: 593-603.

Rowell DL, 1994. Methods and Applications. Longman Group, Harlow.

Sabry SA, Ghozlan HA and Abou-zeid, 1997. Metal tolerance and antibiotic resistence patterns of bacterial populations isolated from sea water. J Appl Microbiol 82: 245-252.

Shi W, Becker M, Bischoff M, Turco RF and Konopka AE, 2002a. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium and hydrocarbon contamination. Appl Environ Microbiol 68: 3859-3866.

Shi W, Bischoff M and Turco R, 2002b. Long term effects of chromium and lead upon the activity of soil microbial communities. Appl Soil Ecol 21: 169-177.